

# ESKAPE – bakterije koje su uzbunile svijet

## ESKAPE – bacteria that alert the world

Maja Abram\*, Ivana Škrobonja, Damir Ambrožić, Davorka Repac-Antić, Marina Bubonja Šonje

Klinički zavod za kliničku mikrobiologiju,  
Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka

**Sažetak.** Rezistencija na antimikrobne lijekove ugrožava kvalitetu medicinske skrbi u zajednici i bolničkom okruženju. Bakterijska rezistencija prisutna je od samog početka antibiotikskog doba, ali je u proteklih dvadesetak godina poprimila zabrinjavajući trend porasta. Prirođena rezistencija je stalna, genetski zadana osobina nekog mikroorganizma. Stečena rezistencija nastaje neočekivano, u prethodno osjetljivoj bakteriji, mutacijom ili češće horizontalnim prijenosom gena putem plazmida. Rezistencija često nije u potpunosti genetski određena, već može biti heterogena unutar populacije, ovisna o okolišu, strukturi bakterijske populacije ili o fiziološkom stanju bakterijske stanice. Seleksijski pritisak antibiotika važan je čimbenik u odabiru i širenju rezistentnih bakterija. Pojava višestrukorezistentnih bakterija kao uzročnika bolesti posebno je alarmantna. Takvi mikroorganizmi uobičajeno se nazivaju „superbakterije“, ali ne zato što su virulentnije, nego zato jer zbog suženog izbora antibiotika konačni ishod liječenja takvih infekcija može biti neizvjestan i često nepovoljan. Stoga je cilj ovog preglednog članka prikazati saznanja o rezistenciji, mehanizmima bakterijske otpornosti prema antibioticima i onim višestrukorezistentnim bakterijama koje danas predstavljaju najveću prijetnju globalno i lokalno, a udružene su pod akronimom ESKAPE.

**Ključne riječi:** antimikrobni lijekovi; bakterije; ESKAPE; rezistencija

**Abstract.** Resistance to antimicrobial drugs jeopardizes the quality of medical care in the community and in the hospital environment. Bacterial resistance has been present since the beginning of the antibiotic period, but over the last twenty years it has a worrying increasing trend. Innate resistance is a permanent, genetic predetermined feature of some microorganism. Acquired resistance occurs unexpectedly, in a previously sensitive bacterium, by mutation, or more often by horizontal genes transmission by plasmids. Resistance does not always have to be completely genetically defined, but can be heterogeneous within the population, depending on the environment, bacterial population structure and physiological state of bacterial cell. Antibiotic selection pressure is an important factor in the selection and spread of resistant bacteria. Appearance of multiple resistant bacteria as a cause of the disease is particularly alarming. Such microorganisms, are commonly referred to as “super-bacteria”, not because they are more virulent, but due to the narrowed choice of susceptible antibiotics. The final outcomes of infections caused by these microorganisms are uncertain and often disadvantageous. Therefore, the aim of this review article is to provide insights into bacterial resistance, resistance mechanisms to antibiotics and multi-resistant bacteria that present the greatest threat globally and locally, and are associated under the acronym ESKAPE.

**Key words:** bacteria; antimicrobial drugs; ESKAPE; resistance

**\*Dopisni autor:**

Prof. dr. sc. Maja Abram, dr. med.  
Klinički zavod za kliničku mikrobiologiju  
Klinički bolnički centar Rijeka  
Krešimirova 42, 51 000 Rijeka  
e-mail: maja.abram@medri.uniri.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

## UVOD

Unatoč napretku u dijagnostičkim, terapijskim i preventivnim protokolima, infektivne bolesti još uvijek predstavljaju jedan od značajnih problema u kliničkoj medicini, globalnu prijetnju javnom zdravlju te velik izazov u biomedicinskim istraživanjima<sup>1</sup>. Bakterijska rezistencija prisutna je od samog početka antibiotskog doba, ali u proteklih dvadesetak godina zabrinjavajuće raste. Na rezistenciju utječu cjelokupna potrošnja antibiotika u populaciji te način njihove primjene<sup>2</sup>. Zloupotreba antibiotika čest je problem širom svijeta, a odnosi se na primjenu antibiotika kada nije potreban, subdoziranje lijeka, preskakanje doza, ponovno korištenje ostataka antibiotika, samoliječenje antibioticima, mogućnost kupnje antibiotika bez recepta i niz drugih oblika ponašanja koji su odgovorni za klinički neuspjeh liječenja i razvoj bakterijske rezistencije<sup>3</sup>. Prekomjerna, pogrešna ili nepotrebna uporaba antibiotika dovodi do selekcijskog pritiska koji potiče bakterijsku prilagodbu i posljedično razvoj rezistencije. Eskalacija bakterijske otpornosti, uz nedostatak ili skroman razvoj novih antibiotika, upozoravaju da bi u budućnosti postantibiotsko doba moglo postati stvarnost<sup>4</sup>. Pojava višestrukorezistentnih bakterija kao uzročnika bolesti posebno je alarmantna jer konačni ishod liječenja takvih infekcija može biti neizvjestan i često nepovoljan. Stoga je cilj ovog preglednog članka prikazati saznanja o rezistenciji i onim višestrukorezistentnim bakterijama koje danas predstavljaju najveću prijetnju globalno i lokalno, a udružene su pod akronimom ESKAPE.

## BAKTERIJSKA REZISTENCIJA

### Prirodna i stečena rezistencija

U kliničkoj medicini, antimikrobna rezistencija zanimljiva je prvenstveno u kontekstu infekcije, no činjenica je da i patogene i nepatogene bakterije u prirodnom okolišu pokazuju visoku razinu prirodne otpornosti na klinički relevantne antimikrobne lijekove. Prirodna rezistencija može biti posljedica nedostatka ciljnog mjesta za vezanje antibiotika, nemogućnosti ulaska lijeka u bakterijsku stanicu, pojačanog izbacivanja lijeka iz bakterijske stanice zbog kromosomski kodiranih aktivnih efluksnih pumpi ili urođene proizvodnje

enzima koji inaktiviraju antimikrobni lijek<sup>5</sup>. Tako su, primjerice, enterokoki prirodno otporni na cefalosporine jer se ovaj lijek veže na specifične proteine u peptidoglikanu staničnog zida (PBP, engl. *penicillin binding proteins*) koje ove bakterije nemaju<sup>6</sup>. U drugom primjeru, vrste iz roda *Klebsiella* prirodno su otporne na ampicilin zbog proizvodnje beta-laktamaza koje uništavaju lijek prije nego što se uspije vezati za svoja ciljna mjesta<sup>7</sup>. Iako za liječenje infekcija uzrokovanih bakterijama koje posjeduju prirodnu rezistenciju

Bakterijska rezistencija prisutna je od samog početka antibiotskog doba, ali je u proteklih dvadesetak godina poprimila zabrinjavajući trend porasta. Na rezistenciju utječu cjelokupna potrošnja antibiotika u populaciji te način njihove primjene. Prekomjerna, pogrešna ili neprimjerena uporaba antibiotika dovodi do selekcijskog pritiska koji potiče bakterijsku prilagodbu i posljedično razvoj rezistencije.

najčešće postoji mogućnost izbora antimikrobnog lijeka, znanstvena istraživanja mehanizama prirodne rezistencije sve su brojnija. Genski produkti odgovorni za intrinzičnu bakterijsku rezistenciju istražuju se u smislu traganja za alternativnom antimikrobnom terapijom. Inhibicijom elemenata intrinzične rezistencije omogućila bi se antimikrobna djelotvornost postojećih antibiotika i njihova ponovna klinička uporaba<sup>8,9</sup>. Za razliku od prirodne rezistencije koja predstavlja „normalno” ponašanje neke bakterijske vrste, klinički značajno veći problem predstavlja stečena rezistencija koja nastaje naknadno, često pod pritiskom antimikrobnih lijekova, mutacijom postojećih ili stjecanjem novih gena. Mutacije su relativno rijetke i javljaju se samo u jedne na  $10^7$ – $10^{10}$  bakterija<sup>10</sup>. No, u slučaju stalne izloženosti antibioticima, u početku malobrojne, otporne mutante dobivaju priliku razmnožiti se i zauzeti mjesto onih osjetljivih bakterija koje je taj antibiotik uništio. Takve mutante prenose svoje gene rezistencije vertikalno, na potomstvo, kao i horizontalno, s bakterije na bakteriju, mehanizmima genske rekombinacije.

No, i u odsutnosti genetičke promjene, bakterije mogu postati prolazno i reverzibilno otporne na

antibiotike. Ovakva nenasljedna ili fenotipska rezistencija može se postići različitim mehanizmima koji su povezani s fiziološkim stanjem bakterija i onima kojima mikroorganizmi odgovaraju na različite okolišne faktore i stresore<sup>11</sup>. Najpoznatiji i najbolje istraženi su bakterijska indifferencija, život u biofilmu i fenomen perzistencije. Bakterijska indifferencija prema antibioticima znači da je antibiotik učinkovit samo kada su bakterije u specifičnom fiziološkom ili metaboličkom stanju<sup>12</sup>. Npr.  $\beta$ -laktamski antibiotici nisu djelotvorni prema bakterijama koje se ne dijele, iako su iste bakterije u fazi diobe potpuno osjetljive. Biofilm je kompleksna, strukturirana mikrobna zajednica uklopljena u vlastiti polimerni matriks, adherirana na biotičkoj ili abiotičkoj površini<sup>13</sup>. Biofilmovi su medicinski važni jer su uključeni u patogenezu brojnih, posebno kroničnih bakterijskih infekcija i onih povezanih s prisutnošću stranog tijela, koje je teško uspješno liječiti antibioticima<sup>14</sup>. Različiti su radovi pokazali da su bakterije u biofilmu manje osjetljive na antibiotike od onih koje žive planktonski. Dodatno, opisano je da subinhibicijske koncentracije antibiotika mogu potaknuti formiranje bakterijskih biofilмова te uzrokovati prolaznu toleranciju na iste antimikrobne lijekove<sup>15,16</sup>. Perzisteri su populacija metabolički neaktivnih stanica, visoko tolerantnih na antimikrobna sredstva zbog mogućnosti ulaska u stanje mirovanja ili dormancije<sup>17</sup>. Perzisteri mogu biti odgovorni za kronične i rekurentne infekcije u kojima, zbog primjene antimikrobne terapije, ulaze u fazu mirovanja te postaju nedostupni antimikrobnim agensima.

### Višestruka rezistencija

Međunarodna skupina stručnjaka stupnjevala je višestruku rezistenciju i ponudila sljedeće definicije: višestruka rezistencija (MDR, engl. *multidrug resistance*) znači stečenu rezistenciju na najmanje jedan lijek u tri ili više klasa antibiotika; proširena ili opsežna rezistencija (XDR, engl. *extensively drug-resistance*) definirana je kao neosjetljivost na najmanje jedan lijek u svima, osim dvije ili manje klasa antibiotika; posvemašnja ili potpuna rezistencija (PDR, engl. *pandrug-resistance*) podrazumijeva rezistenciju na sve agense u svim raspoloživim klasama antibiotika<sup>18</sup>. Definicije su iznimno važne kada se uspoređuju i vred-

nuju rezultati pojedinih studija, kao i kod pisanja i predlaganja različitih stručnih smjernica. No, višestrukorezistentni mikroorganizmi (MDRO, engl. *multidrug resistant organisms*), kolokvijalno nazvani „superbakterijama”, predstavljaju značajan problem u zdravstvenim ustanovama, bez obzira na stupanj otpornosti.

### ESKAPE BAKTERIJE

Šest MDRO-a koji se kriju pod akronimom ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*) ključni su krivci odgovorni za oko dvije trećine svih bakterijskih infekcija, posebno onih povezanih sa zdravstvenom skrbi, kao i za rastući problem rezistencije na postojeće antibiotike<sup>19,20</sup>. ESKAPE bakterije obuhvaćaju gram-pozitivne i gram-negativne bakterije, s dominacijom potonjih od kojih mnoge pokazuju ekstremne oblike antimikrobne rezistencije.

Gram-pozitivni ESKAPE patogeni (*Enterococcus faecium* i *Staphylococcus aureus*) dio su normalne mikrobiote kože i sluznica, odnosno probavnog sustava čovjeka. Stoga se mogu uobičajeno naći i danima preživjeti na svim predmetima i površinama koje često dotičemo. Meticilin rezistentni *Staphylococcus aureus* (MRSA) i vankomicin rezistentni *Enterococcus faecium* (VRE) poznati su uzročnici infekcija povezanih sa zdravstvenom skrbi koji se prenose kontaminiranim rukama, odjećom ili priborom s pacijenta na pacijenta ili sa zdravstvenih djelatnika na pacijenta.

### *Enterococcus faecium*

Enterokoki su gram-pozitivne kuglaste bakterije koje su 1980-ih, na temelju genetske razlike, izdvojene iz roda *Streptococcus* i uvrštene u zasebni rod, *Enterococcus*. Za razliku od streptokoka, enterokoki su otporniji na vanjske čimbenike i mogu preživjeti izlaganje ekstremnim temperaturama (5 – 65 °C), pH (4,5 – 10,0), visoke koncentracije soli, što im omogućava široku rasprostranjenost izvan i u organizmu čovjeka kao dio normalne mikrobiote crijeva i ženskog spolnog sustava. Iako je poznato desetak različitih vrsta unutar ovog roda, dvije su najčešće odgovorne za većinu infekcija u ljudi. Uglavnom je *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) još

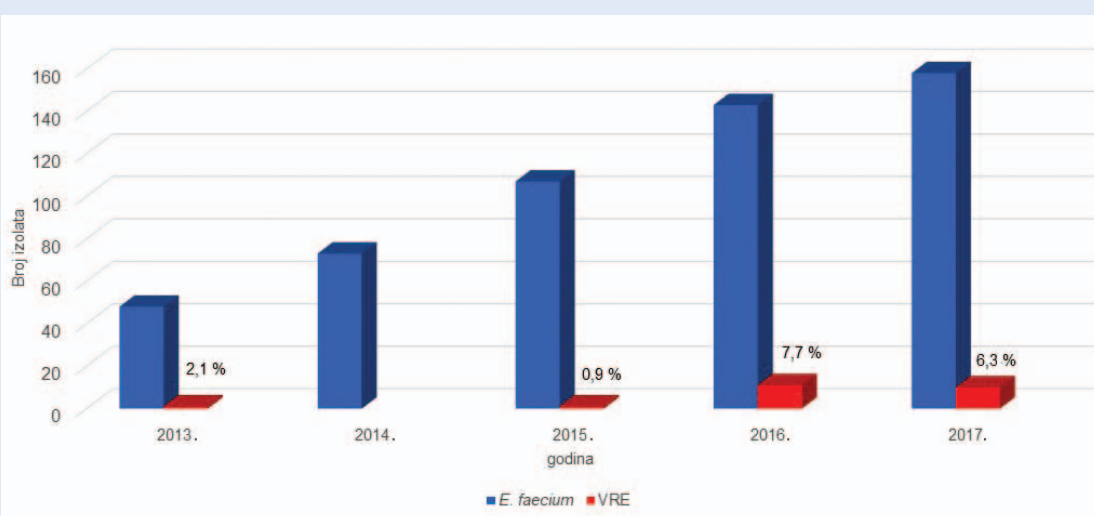
uvijek dominantna vrsta, iza koje slijedi *E. faecium*, dok su druge vrste enterokoka (*E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. avium*, *E. raffinosus*) mnogo rjeđe izolirane iz kliničkih uzoraka<sup>21</sup>. Enterokoki su odavno priznati kao značajni uzročnici endokarditisa, a sredinom 1970-ih prepoznati su i kao važan uzrok bolničkih infekcija, što se vremenski podudara sa sve većom uporabom cefalosporina treće generacije na koje su enterokoki prirodno otporni. Većina enterokoknih infekcija je endogenog podrijetla, međutim, u epidemijama može doći do prijenosa s jednog pacijenta na drugog izravnim ili neizravnim kontaktom, preko ruku osoblja ili preko kontaminirane medicinske opreme.

Osim prema cefalosporinima, enterokoki posjeduju urođenu rezistenciju na penicilina-rezistentne peniciline i monobaktame. Također, svi enterokoki intrinzično ispoljavaju nisku razinu otpornosti na aminoglikozide. Stoga optimalna antimikrobna terapija ozbiljnih enterokoknih infekcija zahtijeva dodavanje antibiotika koji ometaju sintezu staničnog zida, kao što su ampicilin ili vankomicin, čime se značajno povećava unos i djelotvornost aminoglikozida (npr. gentamicina)<sup>22</sup>. Sinergistički baktericidni učinak između aminoglikozida i  $\beta$ -laktama izgubljen je ako postoji visoka razina stečene rezistencije na bilo koji od ovih lijekova. Donedavno, vankomicin je bio praktički jedini antibiotik koji se može konzistentno koristiti za liječenje enterokoknih infekcija. Od 1988.,

kada je prvi put opisan vankomicin-rezistentni enterokok (VRE) njegova incidencija je u stalnom porastu<sup>23</sup>. VRE nije virulentniji od osjetljivih enterokoka, ali je zbog rezistencije liječenje zahtjevnije, a ishod neizvjesniji<sup>24</sup>. U Kliničkom bolničkom centru (KBC) Rijeka, prvi soj VRE-a izoliran je 2013. godine. Od 2016., incidencija VRE-a raste na 6 – 8 % od ukupnog broja dokazanih *E. faecium* (slika 1). U svim slučajevima radilo se o VanA fenotipu s visokim stupnjem inducibilne rezistencije na vankomicin i teikoplanin. Od 20-ak VRE so-

Šest višestrukorezistentnih bakterija koji se kriju pod akronimom ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*) ključni su krivci odgovorni za oko dvije trećine svih bakterijskih infekcija, posebno onih povezanih sa zdravstvenom skrbi, kao i za rastući problem rezistencije na postojeće antibiotike.

jeva izoliranih 2016. – 2017. polovina je izdvojena iz kliničkih uzoraka hematoloških pacijenata, u većini slučajeva kao uzročnici invazivnih infekcija. Studije su pokazale da prethodna uporaba vankomicina utječe na selekciju VRE sojeva<sup>25</sup>. Osim glikopeptida, povećani rizik za kolonizaciju ili infekciju s VRE-om povezan je s izlaganjem cefalosporinima, fluorokinolonima i antianaerobnim



**Slika 1.** Učestalost sojeva *Enterococcus faecium* rezistentnih na vankomicin (VRE) u odnosu na ukupan broj izoliranih sojeva enterokoka

lijekovima širokog spektra, kao što su metronidazol, klindamicin i imipenem<sup>26</sup>. Dodatno, VRE predstavljaju rezervoar koji može biti odskočna daska za širenje gena rezistencije na druge gram-pozitivne patogene. Dokazano je da su VRE izvor gena rezistencije na vankomicin koji su identificirani u meticilin rezistentnim zlatnim stafilokokima (MRSA, engl. Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*)<sup>27</sup>.

### ***Staphylococcus aureus* – MRSA**

*Staphylococcus aureus*, „zlatni” stafilokok zbog zlatno-žutog pigmenta koji stvara, je gram-pozitivna kuglasta bakterija, široko rasprostranjena u okolišu i čest kolonizator ljudske kože i sluznice. *S. aureus*, uključujući i rezistentne MRSA varijante, uobičajeno se nalazi na sluznici vestibuluma nosa, ali također može kolonizirati crijeva i perinealnu regiju zdravih ljudi<sup>28</sup>. Istovremeno, ova bakterija je vodeći uzrok bakterijemije i infektivnog endokarditisa, infekcija kože i mekih tkiva uključujući kirurške rane, osteoartikularnih, pleuropulmonarnih i drugih infekcija.

Uvođenjem penicilina u kliničku praksu 1940.-ih godina smrtnost od stafilokoknih infekcija je značajno smanjena, ali je paralelno, zbog selekcijskog pritiska, zabilježena produkcija penicilinaze koja razara beta-laktamski prsten u molekuli penicilina<sup>29</sup>. Danas, više od 90 % sojeva *S. aureus* posjeduje plazmid na kojem su, osim gena za rezistenciju na penicilin, najčešće smješteni i dodatni geni rezistencije, npr. za gentamicin i eritromicin. Na β-laktamazu/penicilinazu stabilni penicilini, kao što je flukloksacilin, lijek su izbora za liječenje infekcija uzrokovanih penicilin rezistentim stafilokokima<sup>30</sup>. Kao odgovor na rastuću penicilinsku rezistenciju, 1959. u Velikoj Britaniji uveden je polusintetski β-laktamski antibiotik meticilin, no ponovno su se, s početkom njegove kliničke uporabe, pojavili i MRSA sojevi koji su unutar dvije godine izolirani i u drugim europskim državama, potvrđujući svoj epidemijski potencijal, klonsku distribuciju i sposobnost uzrokovanja invazivnih infekcija<sup>29</sup>. Stafilokokna otpornost na meticilin i sve ostale beta-laktamske antibiotike kodirana je *mecA* i *mecC* genima lociranim na genomskom otoku nazvanom stafilokokna kromosomska *mec* kaset (SCCmec, engl. *Staphylococcal Cassette Chromosome mec*)<sup>31</sup>.

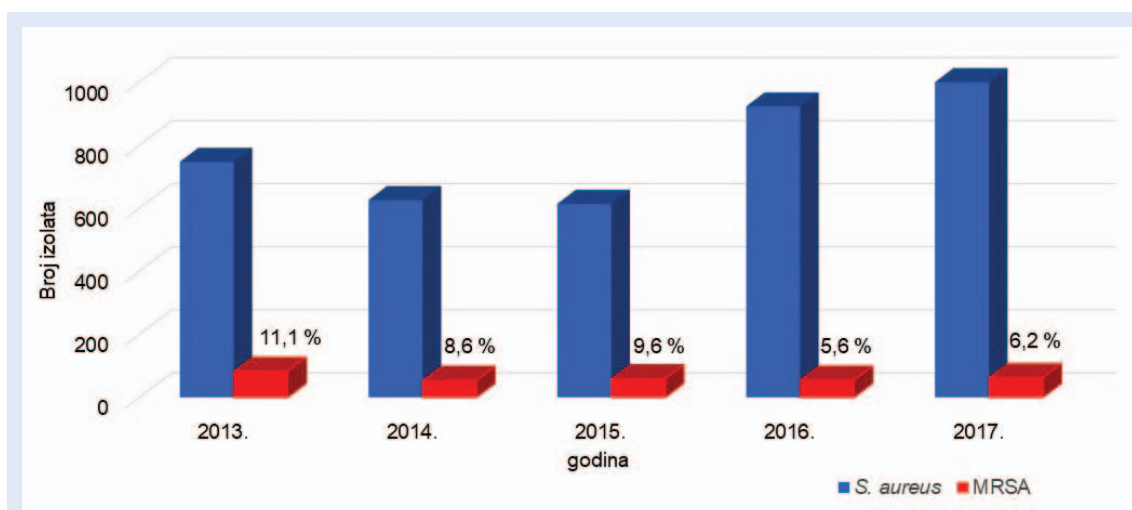
Pretpostavlja se s visokom sigurnošću da SCCmec kaset potječe iz nekih drugih vrsta stafilokoka, kao što su koagulaza negativni *Staphylococcus sciuri* ili *S. epidermidis* od kojih je, *in vivo*, nakon horizontalnog prijenosa *mecA* nastao MRSA<sup>32,33</sup>. Vankomicin, glikopeptid u kliničkoj uporabi više od 50 godina, još uvijek je antibiotik izbora za liječenje rezistentnih gram-pozitivnih, uključujući i MRSA infekcije. Zbog pojave izolata sa smanjenom osjetljivošću (VISA, engl. vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus*) ili rezistencijom (VRSA, engl. vancomycin resistant *Staphylococcus aureus*) prema vankomicinu, odnosno glikopeptidima, danas postoji mogućnost izbora iz palete novijih djelotvornih antibiotika (linezolid, tedizolid, daptomicin, ceftarolin) kao i da je učestalost MRSA u opadanju<sup>34</sup>. Trend smanjenja MRSA prisutan je i u KBC-u Rijeka. Postotak MRSA izolata u odnosu na ukupan broj zlatnih stafilokoka koji je 2013. iznosio 11,1 %, od 2014. opada i održava se ispod 10 % (slika 2). Također, valja istaknuti da je učestalost MRSA izolata kao uzročnika invazivnih infekcija još manja, jer su u prikazanim postocima objedinjeni svi MRSA izolati, bez obzira na to radi li se o kolonizatorima ili uzročnicima infekcije.

Gram-negativni ESKAPE patogeni (*Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterobacter* spp.) važni su etiološki uzročnici infekcija povezanih sa zdravstvenom skrbi, često su otporni na antimikrobne lijekove širokog spektra, predstavljaju stalni klinički izazov zbog malog broja ili nedostatka antimikrobnih lijekova, pokazuju visok epidemijski potencijal i sposobnost širenja te značajno financijski opterećuju zdravstveni sustav.

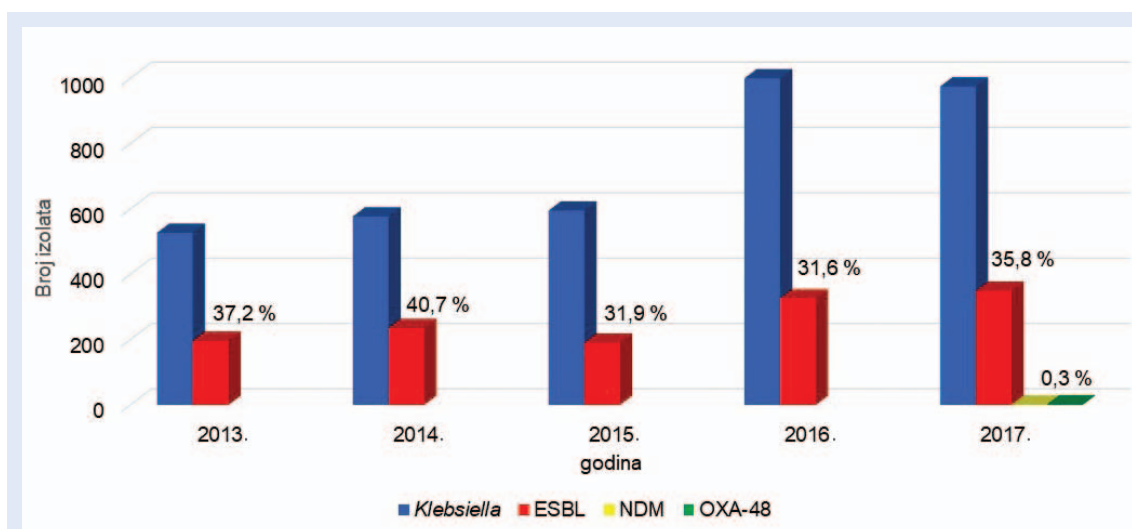
### ***Klebsiella pneumoniae***

*Klebsiella pneumoniae* je jedna od MDRO-a koju su Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) i američki Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (CDC, engl. *Center for Disease Control and Prevention*) prepoznali kao prijetnju ljudskom zdravlju koja zahtijeva hitno djelovanje<sup>35</sup>. *K. pneumoniae* je, kao pripadnik enterobakterija, normalno prisutna u našem probavnom sustavu gdje ne izaziva bolest. No, sve se češće identificira kao uzročnik invazivnih infekcija, osobito u ustanovama zdravstvene skrbi u kritično bolesnih i imunokompromitiranih pacijenata<sup>20</sup>. Dodatno, zabrinjava da





Slika 2. Učestalost meticilin rezistentnog (MRSA) u odnosu na ukupan broj *Staphylococcus aureus*



Slika 3. Učestalost izolata koji luče beta-laktamaze proširenog spektra i metalo-beta-laktamaze u odnosu na ukupan broj izolata iz roda *Klebsiella* ESBL-beta-laktamaze proširenog spektra; NDM-New Delhi metalo-beta-laktamaza; OXA-48-oksacilinaza ili karbapenemaza OXA-48 tipa

je *K. pneumoniae* uobičajeno MDR, a može pokazivati i rezistenciju protiv većine, ako ne i svih danas dostupnih antimikrobnih lijekova, što predstavlja glavnu prijetnju javnom zdravlju.

*K. pneumoniae* izuzetno često, ponegdje endemski, proizvodi  $\beta$ -laktamaze proširenog spektra (ESBL, engl. *extended-spectrum  $\beta$ -lactamases*), enzime koji osiguravaju otpornost na sve peniciline i cefalosporine, osim cefamicina. Geni koji kodiraju ESBL šire se, između bakterija iste ili različitih vrsta, konjugativnim prijenosom plazmida. Najčešćim razlogom za razvoj ESBL posredovane rezistencije spominje se prekomjerna

uporaba i prethodna izloženost cefalosporinima treće generacije i fluorokinolonima<sup>36</sup>. U Hrvatskoj se ESBL pozitivni izolati prvi put spominju 1994. godine, od kada se bilježi trend stalnog i sigurnog porasta učestalosti<sup>37</sup>. U KBC-u Rijeka postotak sojeva *K. pneumoniae* koji produciraju ESBL je visok i kreće se u rasponu od 30 do iznad 40 % (slika 3). Bakterije koje luče ESBL su tipični MDRO zato što se geni koji su odgovorni za druge mehanizme rezistencije često prenose na istom plazmidu kao i gen za produkciju ESBL-a. Trenutno se karbapenemi smatraju lijekovima izbora u liječenju infekcija uzrokovanih ovim bakterijama čime se,

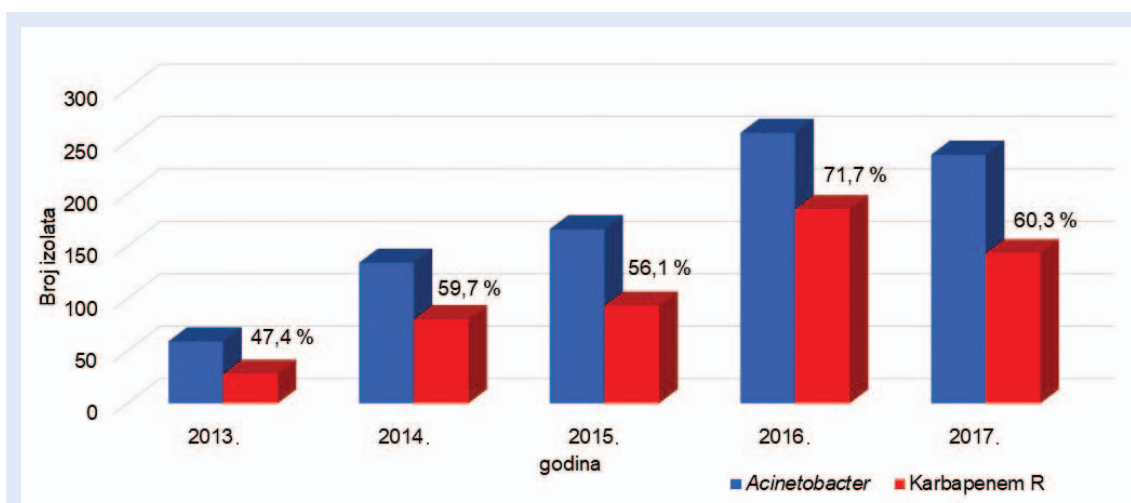
nažalost, stvara selekcijski pritisak koji pogoduje razvoju karbapenemske rezistencije i u drugih izloženih enterobakterija. Te je sojeve teško kontrolirati jer se lako šire unutar i između zdravstvenih ustanova, a mogućnosti antimikrobnog liječenja infekcija uzrokovanih karbapenem rezistentnim bakterijama drastično su ograničene. Pokazalo se da rizik od infekcije ESBL-om ili karbapenem rezistentnim bakterijama raste s dugotrajnim prethodnim liječenjem kombinacijama  $\beta$ -laktama i inhibitora  $\beta$ -laktamaze, fluorokinolonima i karbapenemima<sup>38</sup>. Zato valja istaknuti da osim pacijenata koji imaju značajnu infekciju ESBL pozitivnom bakterijom i koje svakako treba liječiti, postoje oni s kolonizacijom kože, urinarnog ili dišnog sustava, koji ne zahtijevaju specifičnu antimikrobnu terapiju. Ipak, identifikacija koloniziranih pacijenata je važna, budući da ti pacijenti služe kao izvor MDRO-a u uvjetima gdje su higijena ruku i ostale standardne mjere za kontrolu infekcije suboptimalne.

Karbapenemaze su najraznolikije beta-laktamaze među kojima većina enzima hidroliziraju, ne samo karbapeneme, već gotovo sve  $\beta$ -laktame, a dodatno nisu osjetljivi niti na jedan od klinički dostupnih inhibitora  $\beta$ -laktamaze<sup>39</sup>. Karbapenemaze su razvrstane u dvije skupine. Enzimi prve skupine posjeduju serin na aktivnom mjestu i pripadaju klasama A i D. Najpoznatiji enzim iz klase A zasigurno je KPC (engl. *K. pneumoniae carbapenemase*), karbapenemaza koja je pretežno pronađena u *K. pneumoniae*, iako je prisutna i u nekih drugih gram-negativnih bakterija, npr. vrstama iz rodova *Enterobacter* i *Salmonella*. KPC imaju izraziti epidemijski potencijal te se vrlo brzo šire zbog smještaja specifičnih gena na mobilnim genetskim elementima, plazmidima<sup>40</sup>. Uloga oksacilinaza (OXA engl. *oxacillinase*), enzima klase D, smatrala se sekundarnom u odnosu na sveprisutne enzime klase A. OXA enzimi su mnogobrojni, a samo neki od njih, kao npr. OXA-48 koja se može naći i u *K. pneumoniae*, imaju sposobnost hidrolize karbapenema<sup>41</sup>. Enzimi druge skupine su klinički najvažnije karbapenemaze. S obzirom na to da zahtijevaju metal, obično cink, kao kofaktor za svoju aktivnost, nazvane su metalo-beta-laktamazama (MBL, engl. *metallo-beta-lactamases*). Stvaranje MBL-a uzrokuje rezistenciju na karbapeneme i sve  $\beta$ -laktamske antibiotike, osim aztre-

onama, iako mnogi sojevi koji proizvode MBL imaju i dodatne mehanizme rezistencije, npr. ESBL, što rezultira i otpornošću prema aztreonamu. Među brojnim MBL, poznatije su imipenemaza (IMP, engl. *imipenemase*), Verona integron-kodirana MBL (VIM, engl. *Verona integron-encoded metallo- $\beta$ -lactamase*) te New Delhi MBL (NDM, engl. *New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase*). U KBC-u Rijeka tijekom 2017. godine identificirana su četiri soja *K. pneumoniae* rezistentna na karbapeneme, od kojih su tri izolata posjedovala OXA-48, a jedan NDM tip enzima, što je ukupno iznosilo 0,3 % sojeva *K. pneumoniae* koji luče karbapenemaze (slika 3). Izolati nisu bili epidemiološki povezani ni vremenom niti mjestom, tj. radi se o, još uvijek, sporadičnom pojavljivanju. To, međutim, moramo prihvatiti kao upozorenje i potrebu za striktnim pridržavanjem propisanih higijenskih mjera kako bismo spriječili eventualno širenje ovakvih sojeva.

#### ***Acinetobacter baumannii***

*Acinetobacter baumannii* je gram-negativna, aerobna, nepokretna bakterija čiji klinički značaj u proteklom desetljeću sve više raste. Uzrokuje najčešće bakterijemije i respiratorne infekcije povezane sa zdravstvenom skrbi u kritičnih pacijenata. Pokazuje visok stupanj rezistencije na različite klase antibiotika, čime je otežano liječenje i povećana stopa smrtnosti. Bakterija može dugo preživjeti na različitim horizontalnim površinama, a uspjeh prilagodbe može se pripisati genomu koji brzo mutira kada je bakterija izložena nepovoljnim okolišnim uvjetima ili stresu. Zbog toga je izuzetno teško eradicirati *A. baumannii* iz bolničke okoline. Dugotrajni strogi nadzor nad antimikrobnim lijekovima (engl. *antimicrobial stewardship*) uz istodobnu primjenu sveobuhvatnih mjera kontrole infekcije ipak pokazuju određeni uspjeh<sup>42</sup>. Donedavno su se infekcije uzrokovane ovom bakterijom uspješno liječile karbapenemima, no danas, zbog visoke stope rezistencije i prema ovoj klasi antibiotika, posljednjom terapijskom opcijom, unatoč mogućim ozbiljnim nuspojavama, smatra se polimiksin E, kolistin, obično u kombinaciji s nekim drugim antibiotikom radi potencijalnog sinergističkog učinka<sup>43</sup>. U međuvremenu je objavljena pojava kolistin rezistentnih sojeva, odnosno PDR *A. baumannii*<sup>44</sup>. U KBC-u Rijeka postotak učestalost acinetobaktera raste u posljednjih



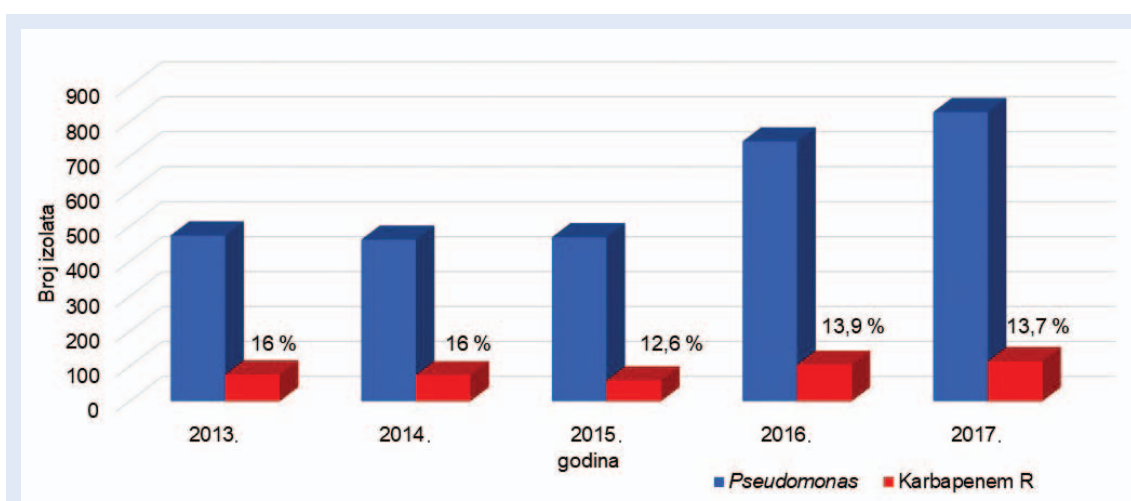
Slika 4. Učestalost sojeva *Acinetobacter baumannii* rezistentnih na karbapeneme (Karbapenem R – rezistencija na karbapeneme)

pet godina, kao i postotak karbapenemske rezistencije među ovim bakterijama (slika 4). Rezistencija prema kolistinu nije detektirana.

#### *Pseudomonas aeruginosa*

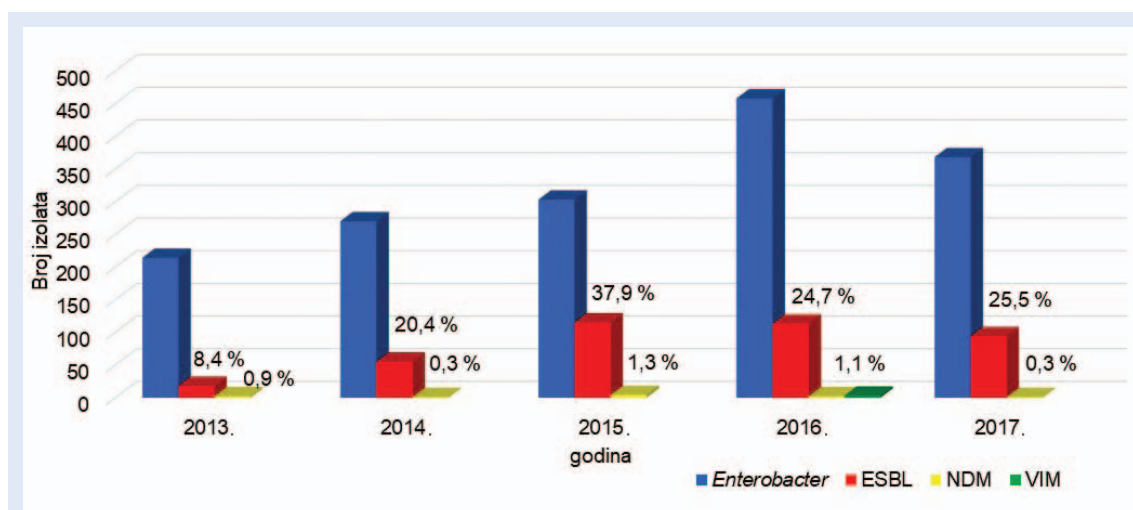
*Pseudomonas aeruginosa* je gram-negativna, aerobna bakterija, široko rasprostranjena u tlu, vodi, na biljkama, u ljudi i životinja kao dio normalne, prolazne mikrobiote. Nije zahtjevan za rast te se lako kultivira ali i preživljava u okolišu gdje podnosi različite vanjske uvjete. Navedene karakteristike, uz sposobnost stvaranja biofilma, omogućavaju mu dugotrajni opstanak u bolničkoj

sredini. Rezervoar su vlažna mjesta, npr. sudoperi, perlatori na slavinama, respiratori, dezinficijensi itd. *P. aeruginosa* je primarni oportunistički patogen sposoban uzrokovati infekcije respiratornog, mokraćnog sustava, bakterijemije, infekcije mekih tkiva i dr. Najčešće uzrokuje infekcije u pacijenata u jedinicama intenzivnog liječenja, u onih koji su podvrgnuti invazivnim dijagnostičkim ili terapijskim postupcima, imunosupresivnoj terapiji ili u drugih životno ugroženih pacijenata. Zbog intrinzične i stečene rezistencije, *P. aeruginosa* je osjetljiv samo na ograničene klase antibiotika. Dokumentirana je rezistencija pseudomonasa



Slika 5. Učestalost sojeva *Pseudomonas aeruginosa* rezistentnih na karbapenemske (Karbapenem R – rezistencija na karbapeneme)





**Slika 6.** Učestalost sojeva iz roda *Enterobacter* koji luče beta-laktamaze proširenog spektra i metalo-beta-laktamaze (ESBL-beta-laktamaze proširenog spektra; NDM-New Delhi metalo-beta-laktamaza; VIM-Verona integron-kodirana metalo-beta-laktamaza)

na  $\beta$ -laktame, aminoglikozide, fluorokinolone, karbapeneme, čak i polimiksine<sup>45</sup>. Među spomenutim antibioticima karbapenemi su dugo smatrani najmoćnijim antibioticima za liječenje pseudomonasnih infekcija. Različitim mehanizmima rezistencije, prvenstveno produkcijom različitih karbapenemaza (KPC, IMP, VIM, OXA varijante i dr.) *P. aeruginosa* postiže otpornost prema karbapenemima<sup>46-48</sup>. Učestalost *P. aeruginosa* kao kolonizatora i uzročnika infekcije raste u KBC-u Rijeka, no rezistencija na karbapeneme se kroz petogodišnje razdoblje konstantno održava na razini ispod 20 % (slika 5).

### **Enterobacter**

Vrste iz roda *Enterobacter*, najčešće *Enterobacter aerogenes* i *E. cloacae*, dio su normalne crijevne mikrobiote čovjeka i životinja. Pojavljuju se u gotovo svim staništima, biljkama, kukcima, vodi i mliječnim proizvodima. Također, značajan su uzrok infekcija povezanih sa zdravstvenom skrbi. U bolničkoj sredini prenose se kontaminiranim endoskopima, stetoskopima, rukama medicinskog osoblja i dr.

Produkcija enzima AmpC  $\beta$ -laktamaza jedan je od najčešćih mehanizama kojim vrste iz roda *Enterobacter* postižu rezistenciju prema  $\beta$ -laktamskim antibioticima. To su klinički važne cefalosporinaze kodirane genima u kromosomima, uzrokuju rezistenciju na ceflosporine prve i druge generacije, većinu penicilina i kombinacije koje uključuju in-

hibitorime beta-laktamaza. Proizvodnja ove cefalosporinaze je visoko inducibilna u prisutnosti jakih induktora kao što su imipenem i klavulanska kiselina, genetskom regulacijom koja je zamršeno povezana s recikliranjem peptidoglikana<sup>49</sup>. *Enterobacter* spp. može producirati i druge beta-laktamaze (ESBL) te karbapenemaze uglavnom KPC, VIM, IMP, NDM i OXA-48. Zabrinjava što je u ovih bakterija, u obje najčešće vrste, detektirana prisutnost *mcr-1* gena koji je odgovoran za rezistenciju na kolistin<sup>50</sup>. U KBC-u Rijeka dominantne vrste enterobaktera jesu *E. aerogenes* i *E. cloacae*, dok se druge vrste javljaju značajno rjeđe. Postotak ESBL pozitivnih izolata je visok. U posljednje dvije godine četvrtina svih izolata pokazuje sposobnost produkcije ESBL-a (slika 6). Od 2013. godine, javljaju se po jedan do dva izolata koji proizvode karbapenemaze. Uglavnom se radilo o NDM MBL-u, dok je 2016. godine detektirano i prisustvo VIM-a (slika 6).

Treba li revidirati akronim ESKAPE?

S obzirom na to da se suočavamo s novim mikrobiološkim, epidemiološkim i kliničkim izazovima vezanim uz MDRO, koji izravno utječu na terapijske protokole, kao i mjere nadzora širenja takvih mikroorganizama, pojavljuju se prijedlozi o potrebi mijenjanja akronima ESKAPE, kako bi se naglasila uloga i nekih drugih, danas značajnih patogena. Među prijedlozima najveću pažnju za slušaju akronimi ESKAPES i ESCAPE.

## ESKAPES

Uz prethodno opisane patogene udružene pod akronimom ESKAPE, autori predlažu da se doda još jedno slovo „S” na kraju akronima koje zaslu- žuje bakterija *Stenotrophomonas maltophilia* zbog visokog stupnja antimikrobne rezistencije<sup>51</sup>. *S. maltophilia* je okolišni MDRO koji se uglavnom nalazi u vodenim staništima, uključujući tekućine i otopine koje se koriste u zdravstvenim ustano- vama (npr. otopine za ispiranje ili intravensku aplikaciju), izlučevine pacijenta (npr. sekreti iz dišnog sustava, urin, eksudati rane), kao i instru- mente i aparate koji dolaze u doticaj sa spomenu- tim tekućinama (respiratori, endoskopi, bronhoskopi, aparati za hemodijalizu). Bakterija se najčešće izolira iz respiratornih uzoraka, a ae- rosol koji se generira kod kašlja ili aspiracije pred- stavlja značajan put prijenosa. Unatoč niskoj virulenciji *S. maltophilia* može uzrokovati različite infekcije, uključujući one povezane sa zdravstve- nom skrbi, naročito u imunokompromitiranih pa- cijenata te teških pacijenata u jedinicama intenzivnog liječenja ili njege. *S. maltophilia* je, prirođeno ili stečeno, rezistentna na niz različitih antibiotika, uključujući karbapeneme, te pred- stavlja značajan rezervoar gena rezistencije u bol- ničkom okruženju. Trenutna preporuka za liječenje je korištenje trimetoprim-sulfametoksa- zola u kombinaciji s ciprofloksacinom<sup>52</sup>.

## ESCAPE

Autori naglašavaju potrebu promjene početnog akronima ESKAPE, u kojem je pod slovom “K” na- glašeno mjesto MDR *K. pneumoniae*, u ESCAPE gdje bi klebsijela bila pridružena enterobakteru i ostalim enterobakterijama koje bi bile objedinjene u posljednjem slovu “E”, dok bi slovo “C” u akro- nim uvrstilo i naglasilo ulogu *Clostridium difficile*<sup>53</sup>. Unatoč tome što *C. difficile* nije sam po sebi MDRO, infekcija koju uzrokuje ova bakterija jedna je od najčešćih bolničkih infekcija s kojima se suo- čavamo, a pojavljuju se u pacijenata koji primaju antibiotike. Što se tiče uključivanja cijele porodice *Enterobacteriaceae* u ESCAPE patogene kao novog krajnjeg slova “E”, ovaj bi akronim tada obuhvatio ne samo *K. pneumoniae* (bivše “K”) i vrste iz roda *Enterobacter* (bivše “E”), već i ostale važne MDRO, kao što su *Escherichia coli* i *Proteus* spp.

## ZAKLJUČAK

Bakterijska rezistencija prema antimikrobnim lije- kovima postala je glavni klinički i javnozdravstveni problem. Suočene s rastućim količinama, često nepotrebno ili pogrešno korištenih antibiotika, bakterije su odgovorile stvaranjem rezistentnih i višestrukorezistentnih potomaka. Problemu pri- donosi i mogućnost horizontalnog širenja gena rezistencije među bakterijama iste, ali i različitih vrsta. Da bismo utjecali na problem moramo po- znati uzrok: vrste i učestalost višestrukorezi- stentnih bakterija na lokalnoj razini, njihov antimikrobni profil, mehanizme njihove rezisten- cij i mikrobiološke dijagnostičke postupke za nji- hovo brzo prepoznavanja. Uvođenjem nadzora nad antimikrobnim lijekovima i striktnim pridrža- vanjem higijenskih mjera, uključujući visoku su- radljivost u higijeni ruku, možemo usporiti ili smanjiti širenje rezistentnih bakterija.

**Izjava o sukobu interesa:** autori izjavljuju da ne postoji sukob interesa.

## LITERATURA

1. Fauci AS, Morens DM: The perpetual challenge of infec- tious diseases. *N Engl J Med* 2012;366:454-61.
2. Goossens H, Ferech M, Vander Stichele R, Elseviers M; ESAC Project Group. Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national data- base study. *Lancet* 2005;365:579-87.
3. Vlahovic-Palcevski V, Francetic I, Palcevski G, Novak S, Abram M, Bergman U. Antimicrobial use at a university hospital: appropriate or misused? A qualitative study. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2007;45:169-74.
4. Appelbaum PC. 2012 and Beyond: Potential for the Start of a Second Pre-antibiotic Era? *J Antimicrob Chemother* 2012;67:2062-8.
5. Cox G, Wright GD. Intrinsic antibiotic resistance: mec- hanisms, origins, challenges and solutions. *Int J Med Microbiol* 2013;303:287-92.
6. Hollenbeck BL, Rice LB. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. *Virulence* 2012;3:421-33.
7. Stock I, Wiedemann B. Natural antibiotic susceptibility of *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. planticola*, *K. ornithinolytica* and *K. terrigena* strains. *J Med Microbiol* 2001;50:396-406.
8. Corona F, Blanco P, Alcalde-Rico M, Hernando-Amado S, Lira F, Bernardini A et al. The analysis of the antibiotic resistome offers new opportunities for therapeutic in- tervention. *Future Med Chem* 2016;8:1133-51.
9. Vestergaard M, Leng B, Haaber J, Bojer MS, Vegge CS, Ingmer H. Genome-Wide Identification of Antimicrobial Intrinsic Resistance Determinants in *Staphylococcus au- reus*. *Front Microbiol* [Internet]. 2016;2018. [cited 2018 May 19] Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.02018/full>.

10. Woodford N, Ellington MJ. The emergence of antibiotic resistance by mutation. *Clin Microbiol Infect* 2007;13: 5-18.
11. Corona F, Martinez JL. Phenotypic Resistance to Antibiotics. *Antibiotics (Basel)* 2013;2:237-55.
12. Levin BR, Rozen DE. Non-inherited antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol* 2006;4:556-62.
13. Costerton JW, Geesey GG, Cheng KJ. How bacteria stick. *Sci Am* 1978;238:86-95.
14. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999;284:1318-22.
15. Singh S, Singh SK, Chowdhury I, Singh R. Understanding the Mechanism of Bacterial Biofilms Resistance to Antimicrobial Agents. *Open Microbiol J* 2017;11:53-62.
16. Hall CW, Mah TF. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 2017;41:276-301.
17. Lewis K. Persister cells. *Annu Rev Microbiol* 2010;64: 357-72.
18. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 2012;18:268-81.
19. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB et al. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009;48:1-12.
20. Pendleton JN, Gorman SP, Gilmore BF. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013;11:297-308.
21. Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology* 2009;155:1749-57.
22. Chow JW. Aminoglycoside Resistance in Enterococci. *Clin Infect Dis* 2000;31:586-9.
23. Uttley AHC, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet* 1988;1:57-8.
24. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Rev* 2000;13:686-707.
25. de Bruin MA, Riley LW. Does vancomycin prescribing intervention affect vancomycin-resistant enterococcus infection and colonization in hospitals? A systematic review. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2007;24. [cited 2018 May 19]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1863420/pdf/1471-2334-7-24.pdf>.
26. Harbarth S, Cosgrove S, Carmeli Y. Effects of antibiotics on nosocomial epidemiology of vancomycin-resistant enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46: 1619-28.
27. Ray A, Pultz N, Bhalla A, Aron DC, Donskey CJ. Coexistence of vancomycin-resistant enterococci and *Staphylococcus aureus* in the intestinal tracts of hospitalized patients. *Clin Infect Dis* 2003;37:875-81.
28. Acton DS, Plat-Sinnige MJ, van Wamel W, de Groot N, van Belkum A. Intestinal carriage of *Staphylococcus aureus*: how does its frequency compare with that of nasal carriage and what is its clinical impact? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009;28:115-27.
29. Harkins CP, Pichon B, Doumith M, Parkhill J, Westh H, Tomasz A et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* emerged long before the introduction of methicillin into clinical practice. *Genome Biol* [Internet]. 2017;130. [cited 2018 May 20]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5517843/>.
30. Bal AM, Gould IM. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* and its relevance in therapy. *Expert Opin Pharmacother* 2005;6:2257-69.
31. Ito T, Kuwahara-Arai K, Katayama Y, Uehara Y, Han X, Kondo Y et al. Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) analysis of MRSA. *Methods Mol Biol* 2014;1085:131-48.
32. Wielders CL, Vriens MR, Brisse S, de Graaf-Miltenburg LA, Troelstra A, Fleer A et al. In-vivo transfer of mecA DNA to *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 2001;357: 1674-5.
33. Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect* 2007;13:222-35.
34. Johnson AP. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the European landscape. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the European landscape. *J Antimicrob Chemother* 2011;66:43-8.
35. Centers for Disease Control and Prevention [Internet]. Antibiotic Resistance Threats. [cited 2018 May 20]. Available at: <https://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/>.
36. Lee SO, Lee ES, Park SY, Kim SY, Seo YH, Cho YK. Reduced use of third-generation cephalosporins decreases the acquisition of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004;25:832-7.
37. Bedenić B, Žagar Ž. Extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from Zagreb, Croatia. *J Chemother* 1998;10:449-59.
38. Kritsotakis EI, Tsioutis C, Roubelaki M, Christidou A, Gikas A. Antibiotic use and the risk of carbapenem-resistant extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infection in hospitalized patients: results of a double case-control study. *J Antimicrob Chemother* 2011;66:1383-91.
39. Bedenić B, Sardelić S, Vranić-Ladavac M, Barišić N, Ladavac R. Carbapenemase gram-negativnih bakterija. *Liječ Vjesn* 2014;136:94-103.
40. Bubonja-Šonje M, Abram M. Globalno širenje bakterija koje proizvode karbapenemaze. *Medicina Fluminensis* 2014;50:128-49.
41. Poirel L, Heritier C, Tolun V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:15-22.
42. Cheon S, Kim MJ, Yun SJ, Moon JY, Kim YS. Controlling endemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in Intensive Care Units using antimicrobial stewardship and infection control. *Korean J Intern Med* 2016;31: 367-74.
43. Tuon FF, Rocha JL, Merlini AB. Combined therapy for multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection—is there evidence outside the laboratory? *J Med Microbiol* 2015;64:951-9.
44. Cai Y, Chai D, Wang R, Liang B, Bai N. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. *J Antimicrob Chemother* 2012;67:1607-15.

45. Johansen HK, Moskowitz SM, Ciofu O, Pressler T, Høiby N. Spread of colistin resistant non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa* among chronically infected Danish cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros* 2008;7:391-7.
46. Poirel L, Nordmann P, Lagrutta E, Cleary T, Munoz-Price LS. Emergence of KPC-producing *Pseudomonas aeruginosa* in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2010;3072. [cited 2018 May 20]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2897310/pdf/0513-10.pdf>.
47. Jovcic B, Lepsanovic Z, Suljagic V, Rackov G, Begovic J, Topisirovic L et al. Emergence of NDM-1 metallo-beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Serbia. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:3929-31.
48. Lautenbach E, Synnestvedt M, Weiner MG, Bilker WB, Vo L, Schein J et al. Imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: emergence, epidemiology, and impact on clinical and economic outcomes. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010;31:47-53.
49. Guérin F, Isnard C, Cattoir V, Giard JC. Complex Regulation Pathways of AmpC-Mediated  $\beta$ -Lactam Resistance in *Enterobacter cloacae* Complex. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59:7753-61.
50. Zeng KJ, Doi Y, Patil S, Huang X, Tian GB. Emergence of the Plasmid-Mediated mcr-1 Gene in Colistin-Resistant *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2016;60:3862-3.
51. ALS Environmental [Internet]. Barsby N, Johal P. ESKAPE: Emerging Pathogens of Concern. 2015 [cited 2018 May 20] Available from: [https://www.alsenvironmental.co.uk/mediauk/papers/eskapes\\_published\\_january\\_2015.pdf](https://www.alsenvironmental.co.uk/mediauk/papers/eskapes_published_january_2015.pdf).
52. Brooke JS. *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2012; 25:2-41.
53. Peterson LR. Bad bugs, no drugs: no ESCAPE revisited. *Clin Infect Dis* 2009;49:992-3.